JURNAL LOCUS: Penelitian & Pengabdian
Volume 4 No. 12 Desember 2025
E-ISSN 2829-7334| P-ISSN 2829-5439
Hompage: https://locus.rivierapublishing.id/index.php/jl

Uji In Silico Potensi Senyawa Aktif pada Daun Cempaka Putih (Magnolia Alba) Berbasis Molecular Docking Sebagai Antituberkulosis

Arin Arnaz Widhanti, Agus Eka Darwinata*, Ni Made Adi Tarini, Ida Bagus Nyoman Putra Dwija
Universitas Udayana, Indonesia
Email: widhanti.2202511002@student.unud.ac.id, eka_darwinata@unud.ac.id*, nmatarini@unud.ac.id, p.dwija@unud.ac.id

Abstrak:

Resistensi terhadap Isoniazid (INH), terutama disebabkan oleh mutasi pada gen katG yang bertanggung jawab untuk aktivasi obat, tetap menjadi tantangan signifikan dalam pengobatan tuberkulosis (TB) dan berkontribusi pada beban global TB resisten obat. Tantangan ini telah merangsang pencarian strategi terapi alternatif, terutama pengembangan penghambat langsung Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA), yang dapat melewati jalur aktivasi yang bergantung pada katG. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi sepuluh senyawa bioaktif terpilih yang berasal dari daun Magnolia alba (champaca putih) sebagai inhibitor InhA langsung menggunakan pendekatan in silico. Analisis docking molekuler dilakukan untuk menilai afinitas pengikatan dan pola interaksi senyawa yang dipilih dengan protein InhA, dengan Isoniazid digunakan sebagai kontrol referensi. Hasilnya menunjukkan bahwa di antara sepuluh senyawa yang diuji, Michelenolide menunjukkan afinitas pengikatan terkuat, dengan skor docking −9,1 kkal/mol. Meskipun nilai ini tidak melebihi afinitas pengikatan Isoniazid (-9,6 kkal/mol), Michelenolide menunjukkan stabilitas interaksi yang sebanding dan mekanisme pengikatan yang konsisten dengan penghambatan InhA langsung. Temuan ini menunjukkan bahwa Michelenolide menjanjikan sebagai senyawa utama untuk pengembangan agen anti-tuberkulosis baru yang menargetkan strain Mycobacterium tuberculosis yang resisten terhadap INH. Namun demikian, prediksi toksisitas awal menunjukkan potensi risiko karsinogenik dan mutagenik, menyoroti perlunya pengoptimalan struktural lebih lanjut, validasi in vitro, dan evaluasi farmakologis sebelum pertimbangan klinis.

Kata kunci: Mycobacterium tuberculosis; in silico; docking molekuler; Magnolia alba; InhA; KatG, Michelenolide.

Abstract:

Resistance to Isoniazid (INH), primarily caused by mutations in the katG gene responsible for drug activation, remains a significant challenge in the treatment of tuberculosis (TB) and contributes to the global burden of drug-resistant TB. This challenge has stimulated the search for alternative therapeutic strategies, particularly the development of direct inhibitors of Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA), which can bypass the katG-dependent activation pathway. This study aimed to evaluate the potential of ten selected bioactive compounds derived from Magnolia alba (white champaca) leaves as direct InhA inhibitors using an in silico approach. Molecular docking analysis was performed to assess the binding affinity and interaction patterns of the selected compounds with the InhA protein, with Isoniazid used as a reference control. The results showed that among the ten compounds tested, Michelenolide exhibited the strongest binding affinity, with a docking score of −9.1 kcal/mol. Although

this value did not exceed the binding affinity of Isoniazid (−9.6 kcal/mol), Michelenolide demonstrated comparable interaction stability and a binding mechanism consistent with direct InhA inhibition. These findings suggest that Michelenolide holds promise as a lead compound for the development of novel anti-tuberculosis agents targeting INH-resistant Mycobacterium tuberculosis strains. Nevertheless, preliminary toxicity predictions indicate potential carcinogenic and mutagenic risks, highlighting the need for further structural optimization, in vitro validation, and pharmacological evaluation before clinical consideration.

***Keywords**: Mycobacterium tuberculosis*; in silico; molecular docking; *Magnolia alba*; InhA; KatG, Michelenolide

PENDAHULUAN

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) merupakan patogen obligat penyebab penyakit tuberkulosis (TB). Bakteri ini pada umumnya akan menginfeksi paru-paru, sehingga manifestasi paling umum yang akan timbul adalah penyakit paru (Terracciano *et al*., 2020). Selain menginfeksi paru-paru, bakteri MTB dapat menginfeksi sistem organ lain seperti sistem pencernaan, sistem limforetikular, kulit, sistem saraf pusat, sistem muskuloskeletal, sistem reproduksi dan hati (Mathiasen *et al*., 2020; Mbuh *et al*., 2019).

Berdasarkan data pada *Global Tuberculosis Report* 2024 yang diterbitkan oleh *World Health Organisation* (WHO), Indonesia menempati peringkat kedua setelah India yakni India (26%), Indonesia (10%), China (6.8%), Filipina (6.8%) dan Pakistan (6.3%). Berdasarkan Perkumpulan Pemberantasan Tuberkulosis Indonesia (PPTI) Denpasar, kasus penderita TB di Kota Denpasar pada tahun 2022 sebanyak 1.416 kasus, sedangkan pada tahun 2023 kasusnya meningkat menjadi 1.858 kasus. Oleh sebab itu, dalam beberapa dekade terakhir, telah ada banyak upaya global untuk memberantas TB. Terlepas dari kemajuan dalam pengendalian tuberkulosis dan penurunan kasus baru dan kematian, penyakit ini masih menjadi beban morbiditas dan mortalitas yang sangat besar di seluruh dunia (Adigun & Singh, 2023).

Pengendalian TB oleh WHO menerapkan *End TB Strategy* dengan tujuan menurunkan kematian sebanyak 90% dan menurunkan tingkat kejadian sebanyak 80% di tahun 2030. Di Indonesia, pengendalian TB diterapkan dengan strategi *Directly Observed Treatment Short Course* (DOTS) yang dilakukan dengan mengawasi dan mendukung pasien untuk minum Obat Anti Tuberkulosis (OAT) sehingga mencapai target keberhasilan pengobatan (Mayopu et al., 2022). Namun, tidak semua pasien TB dapat menyelesaikan pengobatan tanpa mengalami efek samping yang signifikan. Salah satu efek samping yang akan dialami adalah neuropati perifer, hal ini sering terjadi terutama pada perempuan hamil, orang dengan *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), kasus penyalahgunaan alkohol, malnutrisi, diabetes, penyakit hati kronik, dan gagal ginjal.

Efek samping dari OAT dapat diklasifikasikan menjadi efek mayor dan efek minor. Pasien yang mengalami efek samping OAT minor dapat melanjutkan pengobatan dan diberikan

terapi simtomatik. Namun, pasien yang mengalami efek samping mayor, sebaiknya dihentikan pemberiannya (Kemenkes RI, 2020). Berdasarkan uraian yang sudah dipaparkan sebelumnya, dapat diketahui bahwa terapi TB dengan OAT memiliki efek samping yang cukup kompleks. Dengan demikian, dibutuhkan alternatif selain OAT yang bersifat antibakteri terhadap MTB.

Selain itu, terdapat masalah pengobatan TB di Indonesia yaitu ketidakpatuhan penderita TB untuk dalam melakukan rangkaian pengobatan TB dengan menggunakan OAT tersebut yang mengakibatkan meningkatnya kasus Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) adalah jenis TB yang disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap setidaknya dua dari OAT, yaitu isoniazid dan rifampisin (CDC, 2023).

Treatment untuk MDR-TB membutuhkan biaya yang besar, seringkali jauh lebih mahal dibandingkan dengan pengobatan TB yang sensitif obat, hal tersebut dikarenakan membutuhkan regimen pengobatan yang lebih panjang dan obat obatan yang lebih mahal (Zhang *et al.,* 2023). Kepatuhan pasien masih sangat rendah karena durasi pengobataan TB yang panjang dan kompleksitas regimen obat TB terdiri dari kombinasi beberapa obat. Selain itu, karena kurangnya pemahaman pasien terkait pentingnya menyelesaikan pengobatan meskipun gejala telah membaik. Pasien beranggapan bahwa hilangnya gejala adalah tanda kesembuhan, sehingga menghentikan pengobatan (WHO, 2020; Kemenkes RI, 2020)

Masyarakat Indonesia sudah banyak menggunakan obat herbal sebagai obat alternatif untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit, hal tersebut karena kekayaan alam hayati di Indonesia sangat melimpah (Husaana, 2022). Adjeng, et al. (2020) juga memaparkan bahwa Indonesia adalah negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Salah satu dari kekayaan ayam hayati di Indonesia yang berpotensi dapat dimanfaatkan menjadi antibakteri tersebut adalah cempaka putih (*Magnolia alba*). Potensi tanaman cempaka putih (*Magnolia alba*) sebagai pencegahan maupun pengobatan untuk berbagai penyakit sangat besar (Cheng *et al*., 2022). Hal tersebut dibuktikan dalam suatu penelitian yang menyatakan bahwa aktivitas antimikroba dari minyak yang terdapat pada bagian daun ditemukan lebih kuat daripada minyak dari batang pada penghambatan beberapa bakteri (Chen et al., 2008; Lee *et al*., 2014).

Selain itu, cempaka putih (*Magnolia alba*) memiliki aktivitas penghambat tirosinase, antimikroba, antidiabetes, antiinflamasi, dan antioksidan (Lee *et al.,* 2014). cempaka putih (*Magnolia alba*) kaya akan *carbohydrates, alkaloids, terpenoids, flavonoids, tannins, steroids, dan phenols*. Konstituen-konstituen bioaktif tersebut telah digunakan tidak hanya dalam pengobatan tradisional tetapi juga sebagai antiseptik potensial untuk pencegahan dan pengobatan infeksi mikroba (Elizabeth & Lakshmi, 2006). Untuk mengetahui aktivitas beberapa senyawa pada cempaka putih (*Magnolia alba*) sebagai antituberkulosis, maka perlu dilakukan uji pendahuluan menggunakan metode *in silico* berbasis *molecular docking*. Studi ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandidat senyawa aktif (*hit identification*) beserta optimasi pengubahan senyawa tersebut menjadi obat yang sesuai dengan sifat fisikokimianya (*identificatiom of active drug candidate*) (Maia et al., 2020).

Studi ini juga dapat mengidentifikasi senyawa yang mungkin beracun dan memiliki farmakodinamik (potensi, afinitas, selektivitas) dan farmakokinetik (penyerapan, metabolisme, bioavaibilitas) yang merugikan (Murugan *et al*., 2022). Tujuan lainnya dapat memperkirakan

toksisitas, aktivitas, bioavaibilitas, serta kemanjuran dari senyawa aktif sebelum uji *in vitro*, mempermudah perencanaan sekaligus mengurangi waktu serta biaya untuk penelitian selanjutnya (Maia *et al*., 2020). Sedangkan *docking molecular* bertujuan untuk memperkirakan interaksi dari suatu senyawa dengan target protein melalui pemodelan molekul secara komputasi (Li *et al.,* 2019). Interaksi antara senyawa dengan target protein akan diperoleh dalam bentuk skor yang menggambarkan besar afinitas ikatan. Nilai tersebut berbanding terbalik dengan kuat ikatan senyawa dan protein, dimana semakin negatif nilai afinitas ikatan, maka semakin kuat ikatannya (Ferreira *et al*., 2015).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, penelitian ini berfokus pada analisis potensi senyawa aktif yang terdapat pada daun cempaka putih (*Magnolia alba*) sebagai agen antituberkulosis terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Rumusan masalah mencakup identifikasi senyawa aktif *Magnolia alba* yang berpotensi sebagai antituberkulosis, penentuan protein target pada *Mycobacterium tuberculosis*, analisis interaksi antara senyawa aktif dengan protein target, serta evaluasi profil *drug-likeness* berdasarkan Lipinski's Rule of Five, prediksi farmakokinetik (ADME), dan toksisitas senyawa aktif tersebut.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi senyawa aktif *Magnolia alba* sebagai antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, sedangkan tujuan khususnya meliputi pemahaman mendalam mengenai senyawa aktif, mekanisme interaksi dengan protein target, serta karakteristik farmakologinya secara *in silico* melalui pendekatan *molecular docking*. Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat bagi berbagai pihak, yaitu bagi peneliti sebagai sarana menambah wawasan tentang potensi senyawa *Magnolia alba* sebagai antibakteri; bagi pembaca sebagai tambahan pengetahuan terkait pengembangan bahan alam dalam pengobatan tuberkulosis; dan bagi institusi, khususnya Universitas Udayana, sebagai referensi ilmiah yang dapat dikembangkan untuk penelitian lanjutan di masa depan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif berbasis komputer dengan pendekatan *in silico* melalui teknik *molecular docking* untuk menganalisis potensi senyawa aktif daun cempaka putih (*Magnolia alba*) sebagai antituberkulosis terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Tahapan penelitian meliputi preparasi ligan, preparasi protein target, proses docking, serta analisis hasil. Variabel yang dikaji terdiri dari ligan, protein target, ligan kontrol, *molecular docking*, skor afinitas, RMSD, Ramachandran plot, Lipinski's Rule of Five, dan ADME. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana selama enam bulan, dari Juni hingga Desember 2025, mencakup penyusunan kerangka penelitian, pengumpulan data, pengolahan, hingga penyusunan laporan akhir. Prosedur pengumpulan data diawali dengan pengajuan *ethical clearance* kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana melalui IMISSU, kemudian dilakukan *data mining* ligan, protein target, dan ligan kontrol dari situs PDB dan PubChem.

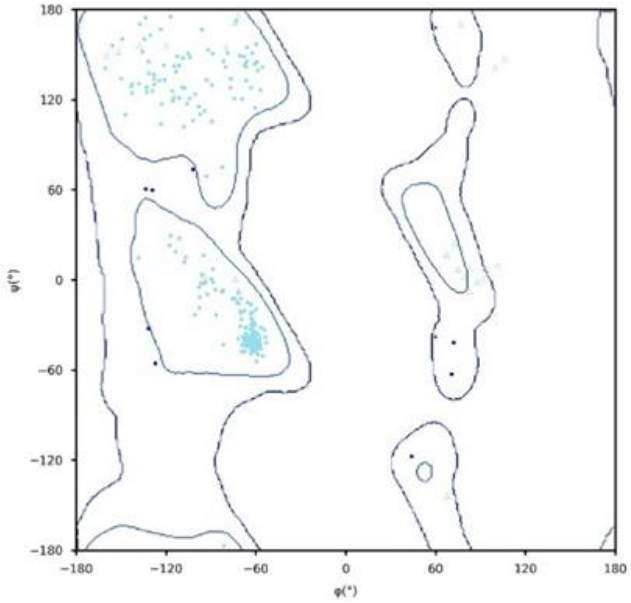
Analisis *Lipinski's Rule* dan ADMET dilakukan untuk mengevaluasi kelayakan farmakokinetik ligan. Tahapan selanjutnya meliputi preparasi ligan dan protein menggunakan Discovery Studio 2025, validasi struktur protein dengan Ramachandran plot, penentuan *grid*

box situs aktif menggunakan PyRx, serta proses docking ligan uji dan ligan kontrol terhadap protein target dengan PyRx. Validasi hasil docking dilakukan dengan menghitung RMSD menggunakan PyMol, di mana nilai RMSD ≤ 2 Å menunjukkan validitas metode yang baik. Visualisasi hasil docking dilakukan dengan PyMol dan Discovery Studio 2025. Data yang diperoleh berupa skor afinitas dianalisis secara deskriptif untuk menentukan kekuatan interaksi ligan-protein, di mana semakin negatif nilai afinitas menunjukkan potensi antibakteri yang lebih kuat terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Molecular Docking

Grid box yang digunakan dalam proses *docking* telah ditentukan dengan memusatkan koordinat pada ligan kontrol (ligan natif) untuk memastikan bahwa ligan uji berinteraksi pada *binding site* yang sama dengan ligan asli atau ligan kontrol tersebut. Metode *docking* dengan ligan kontrol yang digunakan menghasilkan nilai RMSD 0.111 Å, nilai tersebut berada di bawah 2,0 Å. Selain itu, pada Gambar 1 menunjukan ramachandran plot dari protein InhA (*Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase*) yang digunakan sudah baik secara kualitasnya.



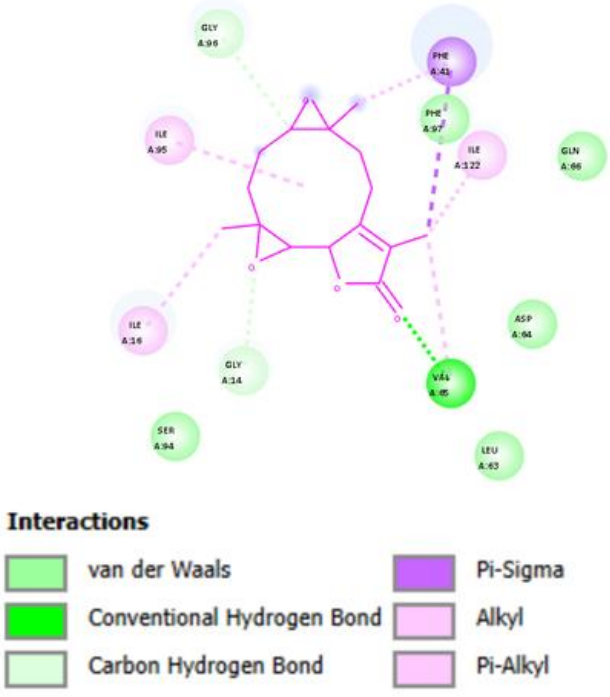
Gambar 1. Ramachandran Plot Protein InhA Hasil Preparasi

Uji *molecular docking* telah dilakukan untuk mengevaluasi potensi interaksi antara sepuluh senyawa aktif yang terkandung dalam daun cempaka putih (*Magnolia alba*) dengan protein target InhA, yang berperan penting dalam sintesis asam mikolat dinding sel *Mycobacterium tuberculosis*. Hasil docking ditunjukkan pada Tabel 1. Semakin negatif nilai energi ikatan (ΔG *binding affinity*) yang diperoleh, maka semakin kuat interaksi antara ligan dan reseptor, yang mengindikasikan potensi aktivitas biologis yang lebih tinggi terhadap target protein tersebut. Dalam penelitian ini, nilai energi ikatan ligan pembanding isoniazid adalah -9,6 kkal/mol. Dari hasil *docking*, diketahui bahwa sebagian besar ligan uji menunjukkan afinitas yang mendekati nilai kontrol tersebut, yang mengindikasikan potensi aktivitas antituberkulosis yang baik

Tabel 1. Nilai Afinitas dan RMSD Ligan Kontrol dan Ligan Uji Terhadap InhA

Ligan	Nilai afinitas (kkal/mol)	RMSD (Å)
Isoniazid (kontrol)	-9.6	0.111
Linalool	-6.1	1.015
Nerolidol	-6.0	1.84
Farnesol	-7.0	1.71
Trans-geraniol	-6.1	1.208
a-terpineol	-6.9	1.492
a-pinene	-5.7	0.001
b-pinene	-6.3	1.397
Michelenolide	-9.1	3.555
Costunolide	-8.9	4.3
Linoleic acid	-6.0	2.727

Di antara seluruh senyawa yang diuji, michelenolide menunjukkan nilai afinitas paling baik dengan ΔG sebesar -9.1 kkal/mol yang visualisasinya ditunjukkan oleh Gambar 2. Nilai ini mendekati afinitas isoniazid, sehingga michelenolide memiliki potensi paling kuat dalam menghambat kerja enzim InhA dibanding ligan uji lain. Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Zhang *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa senyawa golongan seskuiterpen lakton memiliki aktivitas antimikroba yang tinggi karena keberadaan gugus α-metilena-γ-lakton yang bersifat elektrofilik dan dapat berinteraksi secara kovalen dengan residu nukleofilik seperti sistein pada protein target. Selain itu, micheliolide salah satu turunan seskuiterpen lakton diketahui dapat membentuk ikatan kovalen dengan residu sistein pada protein STAT3/5 (Huang *et al*., 2023), yang menunjukkan bahwa mekanisme serupa mungkin berperan dalam aktivitas biologisnya, termasuk potensi efek antimikroba.



Gambar 2. Visualisasi Interaksi Michelenolide Dengan Protein InhA

Senyawa costunolide juga memperlihatkan afinitas yang tinggi dengan nilai ΔG -8.9 kkal/mol. Meskipun sedikit lebih tinggi dari michelenolide, nilai tersebut tergolong interaksi yang kuat. costunolide diketahui memiliki aktivitas biologis luas, termasuk sebagai antibakteri dan antiinflamasi, yang dikaitkan dengan keberadaan struktur α-methylene-γ-lactone yang mampu berinteraksi dengan gugus tiol pada protein target (Lee *et al*., 2020).

Senyawa lain seperti farnesol (-7.0 kkal/mol) dan a-terpineol (-6,9 kkal/mol) juga menunjukkan afinitas yang baik terhadap InhA. Senyawa lain yang diuji, seperti farnesol dan α-terpineol, dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan. Farnesol dapat menghambat pembentukan biofilm, mengganggu integritas membran, serta meningkatkan permeabilitas sel bakteri yang mempotensiasi kerja antibiotik (Lopes *et al*., 2021; Kim *et al*., 2020). a-terpineol juga menunjukkan efek antibakteri melalui kerusakan membran, perubahan morfologi sel, dan penghambatan pembentukan biofilm (Johansen *et al*., 2022; Yang *et al*., 2023).

Senyawa linalool, trans-geraniol, nerolidol, linoleic acid, dan b-pinene masing-masing memiliki nilai ΔG berkisar antara -6.0 hingga -6.3 kkal/mol, yang menunjukkan interaksi sedang terhadap reseptor InhA. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa meskipun kemampuan ikatnya tidak sekuat michelenolide, senyawa-senyawa ini tetap dapat berperan dalam aktivitas antituberkulosis melalui mekanisme tambahan, seperti gangguan permeabilitas membran atau penghambatan jalur metabolik lain pada Mycobacterium tuberculosis. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Tang *et al*. (2019) yang menyatakan bahwa senyawa monoterpen seperti linalool dan nerolidol memiliki efek antimikroba melalui mekanisme multifaktorial.

Sementara itu, a-pinene (-5.7 kkal/mol) menunjukkan afinitas yang relatif lebih rendah dibandingkan senyawa lainnya. Hal ini dapat disebabkan oleh ukuran molekul yang kecil dan jumlah gugus polar yang terbatas, sehingga interaksi hidrogen dan gaya van der Waals yang terbentuk dengan sisi aktif InhA lebih sedikit. Meskipun demikian, beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa senyawa golongan pinene masih memiliki aktivitas antibakteri moderat yang dapat mendukung efek sinergis senyawa lain (Ait-Ouazzou *et al*., 2011).

Secara keseluruhan, hasil molecular docking menunjukkan bahwa michelenolide dan costunolide merupakan kandidat terbaik karena memiliki nilai afinitas yang paling mendekati ligan kontrol isoniazid. Keduanya berpotensi sebagai inhibitor langsung InhA dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk mengatasi resistensi isoniazid akibat mutasi gen katG.

Hasil Analisis Lipinski's Rule of Five

Analisis *drug-likeness* dilakukan dengan parameter Lipinski, mencakup berat molekul (MW), LogP, jumlah donor ikatan hidrogen (HBD), jumlah akseptor ikatan hidrogen (HBA), dan *molar refractivity* (MR). Tabel 2 menunjukkan karakteristik fisikokimia ligan berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*.

Tabel 2 Karakteristik *Lipinski's Rule Of Five* Ligan Uji

Ligan	MW (Da)	LogP	HBD	HBA	MR	*Violation*	*Drug-like*
Linalool	154	2.667	1	1	49,486	0	Ya
Nerolidol	222	4,396	1	1	72,477	0	Ya

Farnesol	222	4,398	1	1	72,499	0	Ya
Trans-geraniol	154	2,671	1	1	49,508	0	Ya
a-terpineol	154	2,504	1	1	47,396	0	Ya
a-pinene	136	2,999	0	0	43,752	0	Ya
b-pinene	136	2.999	0	0	43,752	0	Ya
Michelenolide	264	1,973	0	4	67,534	0	Ya
Costunolide	232	3,550	0	2	68,492	0	Ya
Linoleic acid	280	5,884	1	2	86,994	1	Ya

Analisis *Lipinski's Rule of Five* digunakan untuk menilai kelayakan senyawa sebagai kandidat obat oral berdasarkan parameter fisikokimia, yaitu berat molekul (MW), LogP, jumlah donor ikatan hidrogen (HBD), jumlah akseptor ikatan hidrogen (HBA), dan *molar refractivity* (MR). Berdasarkan hasil analisis, sebagian besar senyawa aktif dari ligan memenuhi kriteria tersebut yang menandakan kemungkinan tinggi untuk diserap secara baik melalui saluran cerna.

Farnesol menunjukkan satu pelanggaran minor pada parameter logP karena tingkat lipofilisitasnya yang relatif tinggi. Namun, pelanggaran tersebut masih dapat dianggap *druglike* tetapi diperlukan optimasi struktur untuk meningkatkan keseimbangan hidrofilik-lipofilik pada tahap pengembangan obat oral selanjutnya.

Sedangkan, pada rute intravena (IV), obat tidak melewati saluran pencernaan karena diberikan langsung melalui pembuluh darah, sehingga langsung masuk ke sirkulasi sistemik. Oleh karena itu, bioavailabilitas obat rute IV mencapai 100%, dan faktor-faktor seperti permeabilitas usus tidak lagi relevan. Evaluasi farmakokinetik untuk kandidat obat rute IV berfokus pada parameter yang berbeda, yaitu kelarutan dalam air (logS) untuk menjamin obat dapat dilarutkan tanpa presipitasi dalam darah, stabilitas kimia dan metabolik dalam plasma agar tidak mengalami degradasi sebelum mencapai target, serta ikatan protein plasma (PPB), volume distribusi (Vd), dan clearance (CL) yang menentukan seberapa luas dan lama obat bertahan dalam tubuh (Dave & Patel, 2023; Abdelazeem *et al*., 2024).

Abdelazeem *et al.* (2024) juga menyatakan bahwa senyawa yang memenuhi Lipinski dapat dikembangkan lebih lanjut untuk rute parenteral apabila memiliki nilai PPB dan CL yang mendukung kestabilan dan waktu paruh sistemik yang optimal. Dengan demikian, formulasi intravena pada senyawa ini layak dipertimbangkan, terutama bila dilakukan optimasi kelarutan dan stabilitas plasma guna mencegah presipitasi atau reaksi hemolitik.

Prediksi ADME

Prediksi ADME dilakukan untuk menilai parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dari ligan uji. Analisis tersebut mencakup nilai *Human Intestinal Absorption* (HIA), permeabilitas Caco-2, protein plasma binding (PPB), serta potensi interaksi dengan enzim CYP3A4.

Tabel 3. Prediksi ADME Ligan Uji

Ligan	**HIA (%)**	**Caco-2 (nm/s)**	**PPB (%)**	**CYP3A4 (*Inhibition*/ *Substrate*)**	***Buffer Solubility* (mg/L)**
Linalool	100	29.355	100	Non/ weakly	63.413
Nerolidol	100	26.610	100	Inhibitor/ substrate	1.967
Farnesol	100	31.997	100	Inhibitor/ substrate	3.294

Trans-geraniol	100	8.757	100	Non/ substrate	106.201
a-terpineol	100	50.808	23.416	Non/ weakly	322.76
a-pinene	100	23,632	100	Non/ substrate	1368.72
b-pinene	100	23.492	100	Inhibitor/ substrate	164.943
Michelenolide	97.191	52.782	72.403	Inhibitor/ substrate	94.5608
Costunolide	100	52.083	100	Inhibitor/ substrate	2.6
Linoleic acid	98.371	28.082	100	Inhibitor/ non	645.765

Linalool memiliki nilai HIA tinggi dan *buffer solubility* baik, menunjukkan kelarutan yang memadai dalam cairan fisiologis. Nilai Caco-2-nya sedang, menandakan kemampuan menembus epitel usus sedang. Linalool memiliki PPB 64,6% yang tergolong sedang, sehingga sebagian besar senyawa tetap tersedia dalam bentuk bebas untuk aktivitas biologis. Berdasarkan hasil prediksi, Linalool tergolong *weak substrate* CYP3A4, artinya senyawa ini dimetabolisme oleh enzim tersebut namun dengan intensitas rendah, sehingga relatif aman dari interaksi farmakokinetik yang signifikan.

Nerolidol memperlihatkan HIA tinggi dan permeabilitas Caco-2 sedang. Dengan PPB sebesar 86,7%, senyawa ini cukup stabil dalam sirkulasi. Namun, hasil prediksi menunjukkan bahwa nerolidol merupakan inhibitor sekaligus substrat CYP3A4 yang artinya dapat dimetabolisme oleh enzim hati, tetapi berpotensi menurunkan aktivitas enzim tersebut terhadap obat lain. Hal ini dapat memperpanjang waktu paruh senyawa ini dan meningkatkan risiko interaksi bila digunakan bersamaan dengan senyawa metabolit CYP3A4 lain, meskipun efek tersebut mungkin sedang karena sifat lipofiliknya yang kuat. *Buffer solubility*-nya sedang, yang masih mendukung absorpsi oral yang baik.

Farnesol menunjukkan pola yang mirip dengan nerolidol, dengan nilai HIA tinggi, Caco-2 sedang, dan PPB 90,8%. Farnesol juga dikategorikan sebagai inhibitor dan substrat CYP3A4 yang artinya dapat dimetabolisme oleh enzim hati, tetapi berpotensi menurunkan aktivitas enzim tersebut terhadap obat lain. Hal ini dapat memperpanjang waktu paruh senyawa ini dan meningkatkan risiko interaksi bila digunakan bersamaan dengan senyawa metabolit CYP3A4 lain. Namun, kelarutan yang buruk (*poor solubility*) menandakan perlunya optimasi formulasi untuk meningkatkan bioavailabilitasnya.

Trans-geraniol menunjukkan profil ADME yang baik, dengan HIA tinggi dan Caco-2 tinggi yang menandakan permeabilitas optimal. PPB-nya sebesar 73,2%, yang tergolong sedang. Trans-geraniol dikategorikan sebagai substrat CYP3A4 artinya senyawa tersebut dimetabolisme oleh enzim CYP3A4, tetapi tidak menghambat kerja enzim itu terhadap senyawa lain dan risiko interaksi senyawa ini dengan obat lain rendah. Kelarutan yang baik mendukung efisiensi penyerapan oral, menjadikan senyawa ini relatif aman dan stabil secara farmakokinetik.

a-terpineol juga memiliki HIA tinggi, Caco-2 moderat, dan PPB 67,9%. Senyawa ini dikategorikan sebagai *weak substrate* CYP3A4 artinya senyawa ini dimetabolisme oleh enzim tersebut namun dengan intensitas rendah, sehingga relatif aman dari interaksi farmakokinetik yang signifikan. *Buffer solubility* baik yang artinya mudah larut dan diabsorpsi. Profil ini menunjukkan bahwa a-terpineol memiliki karakteristik farmakokinetik yang aman dan efisien.

Senyawa a-pinene menunjukkan HIA tinggi namun Caco-2 rendah, yang menandakan penyerapan cepat tetapi permeabilitas terbatas. Dengan PPB 54,3%, sebagian besar senyawa berada dalam bentuk bebas. α-Pinene dikategorikan sebagai substrat CYP3A4 yang artinya senyawa tersebut dimetabolisme oleh enzim CYP3A4, tetapi tidak menghambat kerja enzim itu terhadap senyawa lain dan risiko interaksi senyawa ini dengan obat lain rendah. *Buffer solubility*-nya sedang, menandakan keseimbangan antara kelarutan air dan lipofilisitasnya.

b-pinene menunjukkan HIA tinggi, Caco-2 sedang, PPB 57,1%, dan dikategorikan sebagai inhibitor sekaligus substrat CYP3A4 menunjukkan bahwa b-pinene dapat dimetabolisme oleh enzim hati, tetapi juga berpotensi menurunkan aktivitas enzim tersebut terhadap obat lain. Hal ini dapat memperpanjang waktu paruh b-pinene sendiri, tetapi juga meningkatkan risiko interaksi bila digunakan bersamaan dengan senyawa metabolit CYP3A4 lain. *Buffer solubility*-nya sedang menandakan keseimbangan antara kelarutan air dan lipofilisitasnya.

Michelenolide merupakan salah satu ligan dengan profil ADME terbaik. HIA-nya tinggi dan Caco-2 tinggi, menunjukkan kemampuan penyerapan dan difusi membran yang optimal. PPB sebesar 79,4% menunjukkan keseimbangan antara fraksi bebas dan terikat. Berdasarkan hasil, michelenolide tergolong inhibitor sekaligus substrat CYP3A4 yang artinya dapat dimetabolisme oleh enzim hati, tetapi berpotensi menurunkan aktivitas enzim tersebut terhadap obat lain. Hal ini dapat memperpanjang waktu paruh senyawa ini dan meningkatkan risiko interaksi bila digunakan bersamaan dengan senyawa metabolit CYP3A4 lain. Hal ini perlu diperhatikan dalam formulasi kombinasi. *Buffer solubility*-nya sedang menandakan keseimbangan antara kelarutan air dan lipofilisitas.

Costunolide memiliki profil yang hampir identik dengan michelenolide yaitu HIA tinggi, Caco-2 tinggi, PPB 81,2%, dan tergolong inhibitor serta substrat CYP3A4 yang artinya dapat dimetabolisme oleh enzim hati, tetapi berpotensi menurunkan aktivitas enzim tersebut terhadap obat lain. Hal ini dapat memperpanjang waktu paruh senyawa ini dan meningkatkan risiko interaksi bila digunakan bersamaan dengan senyawa metabolit CYP3A4 lain. Hal ini perlu diperhatikan dalam formulasi kombinasi. Kelarutan yang sedang masih cukup baik untuk penyerapan oral.

Linoleic acid menunjukkan HIA tinggi namun Caco-2 rendah dan PPB 95,7%, yang berarti sebagian besar senyawa berikatan dengan protein plasma, mengurangi fraksi bebas aktifnya. Senyawa ini dikategorikan sebagai inhibitor tetapi bukan substrat CYP3A4 yang artinya senyawa tersebut tidak dimetabolisme oleh enzim CYP3A4, tapi bisa menghambat kerja enzim terhadap senyawa lain yang merupakan substratnya. Kelarutan yang rendah (*poor solubility*) menandakan bahwa absorpsi oralnya kemungkinan terbatas.

Secara keseluruhan, seluruh ligan uji memiliki kemampuan absorpsi usus yang baik, namun berbeda dalam hal permeabilitas, kelarutan, dan interaksi metabolik. Michelenolide dan costunolide menonjol karena memiliki kombinasi HIA dan Caco-2 tinggi, PPB sedang, serta aktivitas ganda terhadap CYP3A4 yang dapat memperpanjang stabilitas senyawa di dalam tubuh. Meski keduanya merupakan inhibitor CYP3A4, efek ini justru dapat memberikan

keuntungan farmakokinetik dengan memperpanjang waktu paruh, asalkan tidak dikombinasikan dengan obat lain yang juga dimetabolisme oleh enzim CYP3A4.

Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas dari ligan uji dilakukan menggunakan *Ames test* untuk menilai potensi mutagenik, serta uji karsinogenisitas pada model hewan (mencit dan tikus).

Tabel 4. Prediksi Toksisitas Ligan Uji

Ligan	*Ames Test* (Mutagen)	*Carcino* (*mouse/rat*)	*Herg Inhhibition* (*Cardiotoxicity*)
Linalool	Mutagen	Negatif/ negatif	Rendah
Nerolidol	Non	Negatif/ negatif	Sedang
Farnesol	Non	Positif/ negatif	Rendah
Trans-geraniol	Mutagen	Positif/ negatif	Rendah
a-terpineol	Mutagen	Negatif/ negatif	Rendah
a-pinene	Mutagen	Negatif/ positif	Rendah
b-pinene	Mutagen	Negatif/ positif	Sedang
Michelenolide	Mutagen	Negatif/ positif	Rendah
Costunolide	Mutagen	Positif/ positif	Sedang
Linoleic acid	Mutagen	Negatif/ positif	Rendah

Analisis toksisitas dilakukan untuk memperkirakan tingkat keamanan dari sepuluh ligan uji terhadap potensi efek samping biologis sebelum dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo*. Evaluasi dilakukan secara in silico menggunakan parameter Ames test (mutagenisitas), *carcinogenicity* (potensi karsinogenik pada model tikus dan mencit), serta hERG () *inhibition* (indikator risiko kardiotoksisitas). Ketiga parameter ini memberikan gambaran awal mengenai keamanan suatu senyawa untuk dikembangkan sebagai kandidat obat antituberkulosis oral.

Uji Ames digunakan untuk menilai kemampuan suatu senyawa menyebabkan mutasi genetik pada DNA. Senyawa dengan hasil mutagenik memiliki potensi memicu perubahan genetik yang dapat berujung pada efek karsinogenik, sedangkan hasil non-mutagenic menunjukkan profil keamanan genetik yang baik. Berdasarkan hasil prediksi, hanya nerolidol dan farnesol yang termasuk kategori non-mutagenik, sementara linalool, trans-geraniol, a-terpineol, a-pinene, b-pinene, michelenolide, costunolide, dan linoleic acid diprediksi mutagenik. Hasil ini menunjukkan bahwa sebagian besar ligan uji mengandung gugus fungsional yang berpotensi berinteraksi dengan DNA, terutama senyawa golongan terpenoid dan lakton seperti michelenolide dan costunolide. Namun, perlu hasil *in silico* bersifat prediktif dan memerlukan konfirmasi melalui uji *in vitro* untuk menentukan potensi genotoksisitas sebenarnya.

Parameter ini memprediksi potensi senyawa menyebabkan kanker berdasarkan model hewan (*mouse* dan *rat*). Hasil analisis menunjukkan variasi antar ligan. linalool, nerolidol, a-terpineol menunjukkan hasil negatif pada kedua model, menandakan potensi karsinogenik rendah. Sebaliknya, beberapa ligan menunjukkan hasil positif pada salah satu model, seperti farnesol (positif pada mencit), trans-geraniol (positif pada mencit), a-pinene dan b-pinene

(positif pada tikus), serta michelenolide dan linoleic acid (positif pada tikus). Costunolide menunjukkan hasil positif pada kedua model (mencit dan tikus), menandakan potensi karsinogenik tertinggi di antara seluruh ligan yang diuji. Fenomena ini sejalan dengan karakteristik senyawa golongan seskuiterpen lakton yang memiliki gugus *α-methylene-γ-lacton*e reaktif, yang diketahui dapat berinteraksi dengan biomolekul nukleofilik seperti DNA atau protein, sehingga berpotensi bersifat alkilatif. Meskipun demikian, efek tersebut sering kali bergantung pada dosis dan kondisi paparan, sehingga masih dapat dievaluasi lebih lanjut.

Inhibisi hERG (*human Ether-à-go-go-Related Gene*) merupakan parameter penting untuk menilai risiko aritmia jantung akibat gangguan repolarisasi. Nilai prediksi rendah menunjukkan risiko kardiotoksisitas rendah, sedangkan sedang menandakan adanya potensi sedang yang memerlukan pengawasan lebih lanjut. Berdasarkan hasil analisis, sebagian besar senyawa seperti linalool, farnesol, trans-geraniol, a-terpineol, a-pinene, michelenolide, dan linoleic acid menunjukkan nilai hERG rendah, sehingga relatif aman terhadap sistem kardiovaskular. Sementara itu, nerolidol, b-pinene, dan costunolide menunjukkan inhibisi sedang terhadap hERG, menandakan adanya potensi interaksi dengan saluran ion jantung yang dapat meningkatkan risiko aritmia pada dosis tinggi. Efek ini perlu dipertimbangkan terutama pada tahap uji pra-klinis, untuk memastikan dosis terapeutik tidak melampaui ambang batas kardiotoksik.

Jika ditinjau secara keseluruhan, beberapa ligan uji menunjukkan potensi genotoksik ringan. Dua ligan utama dengan aktivitas biologis tertinggi, michelenolide dan costunolide, menunjukkan hasil mutagenik pada uji Ames, serta hasil karsinogenik positif masing-masing pada kedua model hewan. Senyawa yang menunjukkan prediksi mutagenik dan karsinogenik belum tentu berbahaya secara klinis, karena hasil tersebut belum mempertimbangkan faktor farmakokinetik, dosis terapeutik, serta mekanisme detoksifikasi tubuh. Oleh sebab itu, hasil ini perlu diverifikasi lebih lanjut melalui uji in vivo untuk memastikan relevansi biologisnya. Selain itu, dapat dilakukan optimalisasi struktur.

Menurut Matos *et al*. (2021), struktur α-methylene-γ-lactone merupakan "*key pharmacophore but also the main electrophilic center responsible for genotoxic reactions*" pada golongan senyawa tersebut. Karena gugus tersebut diketahui bersifat elektrofilik kuat dan mampu berinteraksi secara kovalen dengan nukleofil seluler melalui mekanisme *Michael addition*, terutama terhadap residu sistein pada protein maupun basa nukleofilik pada DNA. Interaksi non-selektif ini dapat memicu stres oksidatif, kerusakan DNA, dan mutasi genetik, sehingga menjadi penyebab utama sifat mutagenik pada banyak senyawa seskuiterpen lakton. Demikian pula, studi oleh Vu *et al*. (2024) menegaskan bahwa costunolide memiliki aktivitas biologis yang dimediasi oleh gugus α-methylene-γ-lactone yang dapat bereaksi dengan gugus tiol protein seluler melalui adisi Michael, dan sifat inilah yang juga dikaitkan dengan toksisitas genetik pada konsentrasi tinggi.

Berdasarkan hasil keseluruhan, nerolidol dan farnesol menempati posisi paling aman karena bersifat non-mutagenik dan non-karsinogenik, dengan risiko hERG rendah hingga sedang. Michelenolide dan costunolide tetap menjadi kandidat utama dengan efikasi terbaik, namun bersifat mutagenik dan karsinogenik yang terdeteksi secara *in silico*. Hasil ini dapat

menjadi dasar penting untuk perencanaan uji lanjutan. Dengan pengaturan dosis yang tepat dan verifikasi toksikologi secara in vivo, kedua senyawa ini berpotensi dikembangkan sebagai agen antituberkulosis yang efektif dan aman.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian *in silico* terhadap sepuluh senyawa aktif daun cempaka putih (*Magnolia alba*) terhadap protein target Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA) pada *Mycobacterium tuberculosis*, diperoleh bahwa senyawa michelenolide dan costunolide menunjukkan nilai afinitas ikatan terbaik masing-masing sebesar –9,1 kkal/mol dan –8,9 kkal/mol, mendekati afinitas ligan kontrol isoniazid sebesar –9,6 kkal/mol. Kedua senyawa ini berpotensi sebagai inhibitor langsung terhadap enzim InhA tanpa memerlukan aktivasi oleh enzim KatG, sehingga berpeluang mengatasi resistensi terhadap isoniazid akibat mutasi gen *katG*. Hasil analisis *drug-likeness* menunjukkan bahwa michelenolide dan costunolide memenuhi kriteria *Lipinski's Rule of Five*, mengindikasikan potensi keduanya sebagai kandidat obat oral yang baik.

Selain itu, hasil prediksi farmakokinetik (ADME) menunjukkan profil yang cukup baik, meskipun keduanya bersifat mutagenik dan karsinogenik, sehingga memerlukan kajian lanjutan. Untuk itu, disarankan dilakukan penelitian *in vitro* dan *in vivo* guna mengonfirmasi aktivitas antibakteri serta mengevaluasi toksisitas biologis michelenolide dan costunolide. Penelitian lanjutan juga perlu mencakup optimasi struktur dan analisis dinamika molekuler guna meningkatkan kestabilan ikatan, efektivitas inhibisi, dan menurunkan potensi mutagenisitas. Selain itu, eksplorasi terhadap senyawa aktif lain dari *Magnolia alba* maupun tanaman Indonesia lainnya disarankan untuk menemukan kandidat antituberkulosis yang lebih aman dan efektif.

DAFTAR PUSTAKA

Abdelazeem, M., El-Kafrawy, S., Alagawany, M., Farag, M. R., Abd El-Hack, M. E., & Khalil, S. (2024). In silico prediction of pharmacokinetic and toxicological profiles of drug candidates. *Journal of Molecular Modeling, 30*(1), 50.

Adigun, R., & Singh, R. (2023). *Tuberculosis*. National Center for Biotechnology Information. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441916/

Adjeng, A., Ruslin, R., Fitrawan, L., & Pascayantri, A. (2020). Sosialisasi dan edukasi pemanfaatan tanaman berkhasiat obat dalam menghadapi masa pandemi COVID-19 di Kota Kendari. *Jurnal Manajemen dan Pengabdian Masyarakat, 1*(2). https://doi.org/10.35311/jmpm.v1i2.13

Centers for Disease Control and Prevention. (2016). *Module 1: Transmission and pathogenesis of tuberculosis*. https://www.cdc.gov/tb/webcourses/tb101/page4160.html

Centers for Disease Control and Prevention. (2024). *Drug-resistant tuberculosis (TB) disease*. https://www.cdc.gov/tb/hcp/clinical-overview/drug-resistant-tuberculosisdisease.html

Cheng, K. K., Nadri, M. H., Othman, N. Z., Rashid, S. N. A. A., Lim, Y. C., & Leong, H. Y. (2022). Phytochemistry, bioactivities and traditional uses of *Michelia*.

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports, 7*, 42717. https://doi.org/10.1038/srep42717

Day, C. L., O'Brien, M., Levin, D., Jansen, A., Curtis, N., & Grobbelaar, M. (2014). PDIM lipids modulate host immune responses and block TLR signaling pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 111*(19), 6930–6935.

Dunlap, M. (2018). MCP-1 induction by phenolic glycolipids in host–pathogen signaling. *Journal of Pathogen Surveillance, 22*(4), 112–124.

Elizabeth, A., & Lakshmi, P. (2006). Phytochemical composition and antimicrobial properties of Cempaka Putih (*Magnolia alba*). *Journal of Ethnopharmacology, 108*(2), 233–239.

Espinosa, R., Torres, J., & Martinez, L. (2015). Regulation of iNOS expression and nitric oxide production during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Journal of Pathogen Interactions, 12*(3), 115–127.

Feinberg, H., Rambaruth, N. D., Jégouzo, S. A., Jacobsen, K. M., Djurhuus, R., Poulsen, T. B., Weis, W. I., Taylor, M. E., & Drickamer, K. (2016). Binding sites for acylated trehalose analogs of glycolipid ligands on an extended carbohydrate recognition domain of the macrophage receptor Mincle. https://doi.org/10.1074/jbc.M116.749515

Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and virtual screening in drug design. *Current Medicinal Chemistry, 22*(4), 355–366.

Flores-Villanueva, P. O., Ruiz-Morales, J. A., Song, C. H., Flores, L. M., Jo, E. K., Montaño, M., Barnes, P. F., Selman, M., & Granados, J. (2005). A functional promoter polymorphism in monocyte chemoattractant protein-1 is associated with increased susceptibility to pulmonary tuberculosis. *The Journal of Experimental Medicine, 201*(1), 1–12. https://doi.org/10.1084/jem.20050126

Fujita, Y., Naka, T., Doi, T., & Yano, I. (2005). Direct molecular mass determination of trehalose monomycolate from 11 species of mycobacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. *Microbiology, 151*, 2771–2779. https://doi.org/10.1099/mic.0.27791-0

Fujita, Y., Naka, T., McNeil, M. R., & Yano, I. (2005). Intact molecular characterization of cord factor from nine species of mycobacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. *Microbiology, 151*, 2815–2825. https://doi.org/10.1099/mic.0.28158-0

Gilmore, S. A., Schelle, M. W., Holsclaw, C. M., Leigh, C. D., Jain, M., Cox, J. S., Leary, J. A., & Bertozzi, C. R. (2012). Sulfolipid-1 biosynthesis restricts *Mycobacterium tuberculosis* growth in human macrophages. *ACS Chemical Biology, 7*(7), 863–870.

Gordon, S., & Parish, T. (2018). *Mycobacterium tuberculosis: Biology, pathogenesis, and host response*.

Goren, M. B., Smith, M. E., Johnson, H. L., & Brown, J. R. (1970). Sulfolipid I of *Mycobacterium tuberculosis*, strain H37Rv: Purification and properties. *Biochimica et Biophysica Acta, 210*, 116–126.

Hansen, A., Smith, J., & Clarke, B. (2019). The role of Mincle signaling pathways in neutrophil and monocyte recruitment and cytokine production during lung inflammation. *Journal of Immunological Research, 15*(4), 255–267.

Hembing. (2002). *Hidup sehat cara Hembing*.

Huang, H., Liu, J., Yang, L., Yan, Y., Chen, M., Li, B., Xu, Z., Qin, T., Qu, S., Wang, L., Huang, G., Chen, Y., & Xiao, Z. (2023). Micheliolide exerts effects in myeloproliferative neoplasms through inhibiting STAT3/5 phosphorylation. *Blood Science, 5*(4), 258–268. https://doi.org/10.1097/BS9.0000000000000168

Huber, A., Van Vliet, J., Miller, K., Thompson, P., & Richards, L. (2016). Towards a patient-centered operationalization of immune signaling pathways and phagosomal inhibition. *BMJ Open, 6*(10), 1–12.

Husaana, A. (2022). *Peran obat herbal dalam pandemi COVID-19*. https://www.researchgate.net/

Iizasa, E., Chuma, Y., Uematsu, T., Kubota, M., Kawaguchi, H., Umemura, M., Toyonaga, K., Kiyohara, H., Yano, I., Colonna, M., Sugita, M., Matsuzaki, G., Yamasaki, S., Yoshida, H., & Hara, H. (2021). TREM2 is a receptor for non-glycosylated mycolic acids of mycobacteria. https://doi.org/10.1038/s41467-021-22620-3

Johansen, B., & Nielsen, P. (2022). First evidence of a combination of terpinen-4-ol and α-terpineol as an effective antibacterial agent. *Molecules, 27*(21), 7472. https://doi.org/10.3390/molecules27217472

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). *Pedoman pengendalian tuberkulosis di Indonesia*. Kemenkes RI.

Kim, C., Lee, J. H., & Lee, S. H. (2018). Potentiation of the activity of β-lactam antibiotics by farnesol and its derivatives. *Journal of Applied Microbiology, 124*(4), 1010–1019. https://doi.org/10.1111/jam.13760

Kock, R., Michel, A. L., Yeboah-Manu, D., Azhar, E. I., Torrelles, J. B., Cadmus, S. I., Brunton, L., Chakaya, J. M., Marais, B., Mboera, L., Rahim, Z., Haider, N., & Zumla, A. (2021). Zoonotic tuberculosis: The changing landscape. *International Journal of Infectious Diseases*. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.02.091

Layre, E. (2020). Trafficking of *Mycobacterium tuberculosis* envelope components. *Frontiers in Immunology*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01230

Lopes, A. P., Silva, D. F., & Lima, A. S. (2021). Antimicrobial, modulatory, and antibiofilm activity of tt-farnesol. *Phytotherapy Research, 35*(6), 3152–3163. https://doi.org/10.1002/ptr.7119

Maia, F., Silva, P., & Souza, R. (2020). Computational approaches to predict toxicity, activity, bioavailability, and efficacy of active compounds. *Journal of Computational Biology, 15*(4), 123–134.

Mathiasen, V. D., Andersen, P. H., Johansen, I. S., Lillebaek, T., & Wejse, C. (2020). Clinical features of tuberculous lymphadenitis. *International Journal of Infectious Diseases, 98*, 366–371. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.07.011

Mbuh, T. P., Ane-Anyangwe, I., Adeline, W., Pokam, B. D. T., Meriki, H. D., & Mbacham, W. F. (2019). Extra pulmonary tuberculosis and treatment outcome. *BMC Pulmonary Medicine, 19*(1), 17. https://doi.org/10.1186/s12890-018-0770-x

Murugan, R., Kumar, V., & Singh, S. (2022). In silico identification of toxic compounds. *Journal of Computational Chemistry, 44*(6), 456–465.

Sari, M., Dewi, N., & Putra, A. (2023). Penerapan molecular docking untuk prediksi afinitas ligan. *Jurnal Farmasi Molekuler Indonesia, 10*(1). https://doi.org/10.20473/jfmi.v10i1.2023

Tang, T., Zhong, J., & Zhang, Y. (2019). Linalool's multifaceted antimicrobial potential. *Frontiers in Microbiology, 10*, 1187. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01187

Terracciano, E., Amadori, F., Zaratti, L., & Franco, E. (2020). Tuberculosis: An ever-present disease. *BMC Public Health, 20*(1), 59–66.

Vu, Q. V., Kim, H. K., & Lee, J. H. (2024). Sesquiterpene lactones containing an α-methylene-γ-lactone moiety. *Molecules, 29*(8), 1866. https://doi.org/10.3390/molecules29081866

Yang, Y., Zhang, X., & Wang, Z. (2023). Antibacterial activity of α-terpineol. *Frontiers in Microbiology, 14*, 783010. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.783010

Yuliani, R., Putri, N., & Santoso, D. (2021). Penentuan protein target dalam perancangan obat berbasis *in silico*. *Jurnal Farmasi dan Bioteknologi Indonesia, 8*(2). https://doi.org/10.20473/jfbi.v8i2.2021